TSH

Français - 2001-11 - 1810430001 05 07

11731459 200 tests

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la thyréostimuline (TSH) dans le sérum et le plasma.

Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys) de Roche.

Généralités*

La TSH (Hormone de Stimulation de la Thyroïde) est une glycoprotéine de poids moléculaire d'env. 30 000 daltons et comportant deux sous-unités ; la sous-unité β porte la spécificité immunologique et biologique, alors que la sous-unité α est commune à toutes les hormones glycoprotéiques d'une même espèce (LH, FSH et hCG).

La TSH est secrétée par les cellules basophiles spécifiques de l'anté-hypophyse selon un rythme circadien. Elle est l'hormone du contrôle de la régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes ; elle en stimule la sécrétion et la libération.[1,2]

Le dosage de la TSH est le premier test biologique du bilan thyroïdien à réaliser. De faibles variations du taux d'hormones libres (T4L ou T3L) peuvent s'accompagner de variations inverses importantes de TSH ; le dosage de la TSH est un test très sensible et spécifique pour l'exploration de la thyroïde, il permet de dépister ou d'exclure précocément un dysfonctionnement du système de régulation au niveau de l'hypotalamus, de l'hypophyse ou de la thyroïde elle même.[3-6]

Le test TSH Elecsys utilise un anticorps monoclonal spécifique de la TSH humaine comme anticorps de capture. L'anticorps marqué au ruthénium** est un anticorps chimérique (souris-homme) pour éviter les interférences dues aux anticorps anti-souris (HAMA) présents dans certains sérums.

**$Ru(bpy)_3^{2+}$: Tris(2,2'-bipyridyl) ruthénium(II)

Principe*

Méthode "sandwich". Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1ère incubation : Une prise d'essai de 50 µl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-TSH biotinylé spécifique et d'un anticorps monoclonal anti-TSH marqué au ruthénium** pour former un complexe.
- 2e incubation : Les microparticules tapissées de strepavidine sont ajoutées; le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

Réactifs – Contenu du coffret et concentrations*

Coffret TSH Elecsys, Réf. 11731459, 200 tests

M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 12 ml (bouchon transparent) :
microparticules tapissées de streptavidine, 0,72 mg/ml, capacité de liaison : 470 ng biotine/mg de microparticules; conservateur.

R1 Anticorps anti-TSH~biotine, 1 flacon contenant 14 ml (bouchon gris) :
anticorps monoclonaux de souris anti-TSH marqués à la biotine 2,0 mg/ml ; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,2; conservateur.

R2 Anticorps anti-TSH~$Ru(bpy)_3^{2+}$, 1 flacon contenant 12 ml (bouchon noir) :
anticorps monoclonaux (souris/humain) anti-TSH marqués au ruthénium 1,2 mg/l ; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,2; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.

L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*

Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.

Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons réactifs et doivent être saisies.

Conservation et stabilité*

Conservation à 2–8°C.

Ranger le coffret TSH Elecsys **en position verticale**, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Conservation :

Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée

Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines

Sur E 170 : six semaines

Sur Elecsys 2010 : huit semaines

Sur Elecsys 1010 : huit semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20–25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*

Seuls les échantillons suivants ont été testés :

Sérum : sang total recueilli sur tube standard ou tube contenant un gel séparateur.

Plasma : sang total recueilli sur héparinate d'ammonium, de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, citrate de sodium ou fluorure de sodium/oxalate de potassium.

(Critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110% de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine <± 2 x limite de détection analytique).

Conservation : sept jours à 2–8°C, un mois à –20°C.[7] Ne congeler qu'une fois.

En cas d'utilisation de sérum recueilli sur tube à gel séparateur, se conformer aux indications données par le fabricant des tubes.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur. Ne pas utiliser d'échantillons ou solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20–25°C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les trois heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

TSH Elecsys - Réactifs et matériel nécessaires*

Contenu du coffret

Réf. 11731459, coffret TSH Elecsys pour 200 tests :

- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-TSH~biotine
- R2 Anticorps anti-TSH~$Ru(bpy)_3^{2+}$

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires

- Réf. 11731483, TSH CalSet Elecsys, 4 x 1,3 ml
- Réf. 11776479, PreciControl TSH Elecsys, 4 x 2 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecsys :
  PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 ml
- Réf. 11732277, Diluent Universal, 2 x 18 ml, milieu de dilution de l'échantillon ou
  Réf. 03183971, Diluent Universal Elecsys, 2 x 40 ml milieu de dilution de l'échantillon
- Equipement habituel de laboratoire
- Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- Réf. 11662988, ProCell Elecsys, 6 x 380 ml, tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecsys, 6 x 380 ml, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829, Assay Cup Elecsys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou
  Réf. 11706802, Assay Cup Elecsys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799, Assay Tip Elecsys 2010, 30 x 120 embouts de pipette

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170 :

- Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l, tampon système
- Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et CleanCell M
- Réf. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml, solution de lavage pour la fin de la série et pour le rinçage en cas de changement de réactifs
- Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/embouts de pipettes, sacs pour déchets
- Réf. 03023150, WasteLiner, sacs pour déchets
- Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur pour SysClean M

Pour les trois appareils :

- Réf. 11298500, SysClean Elecsys, 5 x 100 ml de solution de lavage pour la cellule de mesure

Disponible uniquement aux Etats-Unis :

- Réf. 11776703, TSH CalCheck Elecsys, à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

E170/Elecsys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Elecsys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Eviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer** et les replacer au réfrigérateur après la série de dosage.

Calibration*

Le test TSH Elecsys a été calibré par rapport à la deuxième préparation internationale 2nd IRP WHO référence 80/558.[8]

Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions TSH CalSet.

Fréquence de calibration : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré au maximum 24 heures par l'appareil). Une nouvelle calibration est recommandée pour :
E170/Elecsys 2010 :
- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010 :
- à chaque nouveau coffret
- après sept jours à une température ambiante entre 20 et 25°C
- après sept jours à une température ambiante entre 25 et 32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :
- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*
Utiliser PreciControl Universal 1 et PreciControl Universal 2 Elecsys ou d'autres sérums de contrôle appropriés.
Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.
Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance.

Expression des résultats*
E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 calculent le taux de TSH de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en µUI/ml ou mUI/l.

Limites d'utilisation - Interférences*[8]
La bilirubine (<410 mg/l ou 41 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 1 g/dl), la lipémie (Intralipid < 15 g/l ou 1500 mg/dl), la biotine < 60 ng/ml n'influencent pas le résultat (critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale).
Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.[8]
Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 3250 U/ml. Le dosage peut être réalisé sur des sérums de patients dialysés.
Il n'a pas été observé d'effet crochet pour des concentrations jusqu'à 1000 µUI/ml.
L'influence de 26 médicaments fréquemment administrés a été recherchée in vitro : aucune interférence n'a été observée.
Comme pour tous les tests contenant des anticorps monoclonaux de souris, on peut obtenir des résultats erronés avec des sérums de patients ayant reçu des anticorps monoclonaux de souris dans un but thérapeutique ou de diagnostic.
Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces risques sont toutefois minimisés dans le test TSH Elecsys.
Dans des cas isolés, des titres très élevés d'anticorps anti-streptavidine peuvent conduire à des interférences.
Pour le diagnostic, les résultats du test TSH Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

Domaine de mesure*[8]
0,005–100,0 ng/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). La sensibilité fonctionnelle est de 0,014 µUI/ml.[6] Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante :< 0,005 µUI/ml, les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 100,0 µUI/ml ou > 200 µUI/ml pour les échantillons dilués (1/2).

Dilution des échantillons
Les échantillons présentant des concentrations en TSH au-dessus du domaine de mesure peuvent être dilués manuellement avec le Diluent Universal Elecsys 1010 ou automatiquement sur E170/Elecsys 2010 (dilution recommandée : 1/2). La concentration obtenue avec l'échantillon dilué doit être > 10 µUI/ml. Les analyseurs E170 et Elecsys 2010 gèrent la dilution et le calcul du résultat. Si la dilution est effectuée manuellement, multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

Domaine de mesure*[8]
0,27–4,2 µUI/ml. Ces valeurs ont été déterminées à partir de résultats obtenus sur une population de 516 sujets sains et correspondent aux percentiles 2,5 et 97,5.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques*[8]
Précision
Les résultats suivants ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.
La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards); précision intra-série sur E170 : n = 21. PreciControl TSH a été déterminé 1 fois par jour pendant 10 jours (n = 10).

Elecsys 1010/2010		**Précision intra-série**		**Précision inter-série**	
Echantillon	$\bar{x}$ µUI/ml	s µUI/ml	CV %	s µUI/ml	CV %
Sérum humain 1	0,034	0,003	8,6	0,003	8,7
Sérum humain 2	0,91	0,02	2,1	0,03	3,3
Sérum humain 3	3,96	0,07	1,8	0,14	3,6
PreciControl U 1	2,45	0,05	1,9	0,05	2,2
PreciControl U 2	10,67	0,16	1,5	0,19	1,8
PreciControl TSH	0,084			0,005	5,4

E170	**Précision intra-série**			**Précision inter-série**		
Echantillon	$\bar{x}$ µUI/ml	s µUI/ml	CV %	$\bar{x}$ µUI/ml	s µUI/ml	CV %
Sérum humain 1	0,040	0,001	3,0	0,035	0,003	7,2
Sérum humain 2	0,092	0,002	2,7	0,151	0,005	3,2
Sérum humain 3	9,37	0,102	1,1	3,66	0,120	3,3
PreciControl U 1	0,959	0,014	1,5	0,915	0,031	3,5
PreciControl U 2	8,13	0,098	1,2	7,52	0,316	4,2

Sensibilité (limite de détection analytique)
0,005 µUI/ml
La limite de détection correspond au taux le plus faible de TSH mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

Sensiblité fonctionnelle
0,014 µUI/ml
La sensibilité fonctionnelle est définie comme étant la concentration la plus basse donnant une précision inter-série de 20%.

Spécificité analytique
Les anticorps monoclonaux anti-TSH du coffret présentent les réactions croisées suivantes :
LH : 0,038% ; FSH : 0,008% ; hGH et hCG : aucune.

Comparaison de méthodes
Une comparaison de la méthode du test TSH Elecsys (y) avec le test Enzymun-Test TSH (x) sur des échantillons de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes :
Nombre d'échantillons analysés : 109

Passing/Bablok[9-11]	Régression linéaire
y = 0,01 + 1,01x	y = 0,04 + 0,98x
r = 0,99	r = 0,99
s(md68) = 0,060	Sy.x = 0,261

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 0 et 19 µUI/ml.

Bibliographie

1 Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. Londres, Glasgow Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman and Hall Medical, 1994:109–115.
2 Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsanstalt GmbH 1995;2:43–54.
3 Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, Nicoloff JT, Solomon DH. American Thyroid Association Guidelines for the Use of Laboratory Tests in Thyroid Disorders. JAMA 1990;263:1529–1532.
4 Keffer JH. Preanalytical Considerations in Testing Thyroid Function. Clinical Chemistry 1996;42:1,125–135.
5 Ladenson PW. Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter and thyroid cancer. Clin Chem 1996;42:1,183–187.
6 Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. J Clin Endocr Metab 1990;71:553–558.
7 Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3e éd. Philadelphie, Pa:WB Saunders Co 1995:594.
8 Documentation de Roche.
9 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
10 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431-445.
11 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Information-produit TSH Elecsys et aux notices d'utilisation TSH CalSet, PreciControl Universal, PreciControl TSH et Diluent Universal.

📖 = Modification importante. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.


Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



2001-11

